



Caracterização da microbiota mesófila aeróbia de águas superficiais e subterrâneas da microbacia do Lajeado Suruvi

Characterization of aerobic mesophilic microorganisms of surface and underground waters in the Lajeado Suruvi microbasin, Concórdia, Brazil.

Roger Neto Schneider^{1,2}, André Nadvorny¹, Mônica Aparecida Aguiar dos Santos³ & Verônica Schmidt¹

RESUMO

A população microbiana mesófila em águas subterrâneas e superficiais em localidades onde há criação intensiva de suínos tem sido pouco estudada. Este estudo teve como objetivo analisar a diversidade de comunidades de mesófilos aeróbios de águas do rio Suruvi e seus afluentes de poços profundos em propriedades produtoras de suínos localizadas no município de Concórdia, estado de Santa Catarina. As cepas bacterianas foram classificadas de acordo com suas características microscópicas e por testes bioquímicos. Na análise morfológica, observou-se predomínio de colônias com elevação convexa, bordos inteiros, puntiforme, pigmentação ausente e opaca, em ambos os grupos amostrados (águas subterrâneas e superficiais). Observou-se um percentual de 13,7% e 39,9% de cepas bacterianas com características do grupo de bactérias entéricas nas águas subterrâneas e superficiais, respectivamente. Verificou-se que os índices de equitabilidade de águas subterrâneas (0,2199 a 0,5423) foram significativamente maiores ($p=0,003$) que aqueles observados em águas superficiais (0,1154 a 0,2273). Porém, o mesmo não foi observado em relação à diversidade ($p>0,05$). As águas superficiais apresentaram uma maior quantidade de bactérias mesófilas, inclusive o grupo das entéricas comparado com as águas de poços profundos, indicando maior suscetibilidade das coleções de superfície a alterações na microbiota.

Descritores: diversidade bacteriana, dejetos suínos, microrganismos mesófilos aeróbios.

ABSTRACT

The mesophilic bacterial population of surface waters in sites of intense pig husbandry has been but scarcely investigated. This study aimed to analyze the diversity of aerobic mesophilic communities in the waters of the Suruvi river and its tributary rivers, as well as in waters of deep wells built in pig farms in the municipality of Concórdia, state of Santa Catarina, Brazil. Bacterial strains isolated were classified according to microscopic characteristics and biochemical tests. The morphologic analysis revealed the prevalence of dull, punctiform cultures of convex elevation, entire margins, but no chromogenesis in both water samples analyzed (underground and surface). Strains that were characterized as enteric bacteria were present as 13.7 and 39.9% in underground and surface waters, respectively. Equitability indices for underground waters (0.2199 to 0.5423) were significantly higher as compared to those indices observed for surface waters (0.1154 to 0.2273). Yet, such results were not observed for diversity ($p>0.05$). Surface waters presented higher mesophilic bacteria counts, even considering enteric bacteria, as compared to deep well waters. This indicates that surface bacterial populations are more susceptible to alterations in the microbiota.

Key words: bacterial diversity, aerobic mesophilic microorganisms, pig slurry.

INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural renovável e um bem que deve ser utilizado pelo homem para a sua sobrevivência e melhoria de suas condições econômicas e sociais. Entretanto, devido ao incremento de sua utilização, resultante do crescimento populacional e do desenvolvimento industrial e agrícola, este recurso natural pode tornar-se poluído ou mesmo escasso [9].

O uso de fertilizantes agrícolas e a criação de animais, além dos sistemas de saneamento urbano, constituem importante fonte de contaminação de águas subterrâneas [22]. Os dejetos animais contribuem com importante parcela da matéria orgânica liberada nos recursos hídricos e podem carrear grande número de microorganismos [2] de interesse sanitário. Embora os microrganismos patogênicos de transmissão hídrica tenham sido amplamente discutidos, o comportamento de populações microbianas mesófilas, presentes em águas superficiais e subterrâneas, é pouco estudado, sendo que estudos das comunidades bacterianas nos diferentes *habitats* ainda são escassos [3].

Em estudo realizado em sistemas para o armazenamento de dejetos suínos no meio-oeste do estado de Santa Catarina [20], verificou-se que o mesmo não era eficiente na redução da população de coliformes, que tem o solo como disposição final. Dando prosseguimento aos estudos anteriores, objetivou-se quantificar e caracterizar a microbiota mesófila aeróbia presente em águas superficiais e subterrâneas na região da Microbacia do Lajeado Suruvi, região de intensa produção suínica situada no meio-oeste do estado de Santa Catarina.

MATERIAIS E MÉTODOS

No período de setembro a novembro de 2005, em intervalo médio de 15 dias, amostraram-se águas superficiais do rio Lajeado Suruvi e seus afluentes em trechos que sofrem influência direta de unidades agrícolas estabelecidas em suas margens e de águas subterrâneas destas mesmas propriedades. Foram amostrados seis pontos de água subterrânea (P1, P4, P7, P8, P11 e P14) e sete pontos de coleções de superfície (P3, P5, P10, P13, P16, P17 e P18) (Figura 1).

Realizou-se a contagem de bactérias mesófilas totais através de diluição (10^0 até 10^{-3}) das amostras em água peptonada 0,1% e semeadura em profundidade [4]. Avaliaram-se, ainda, o número, bem como a proporção de colônias pertencentes a cada tipo colonial e a

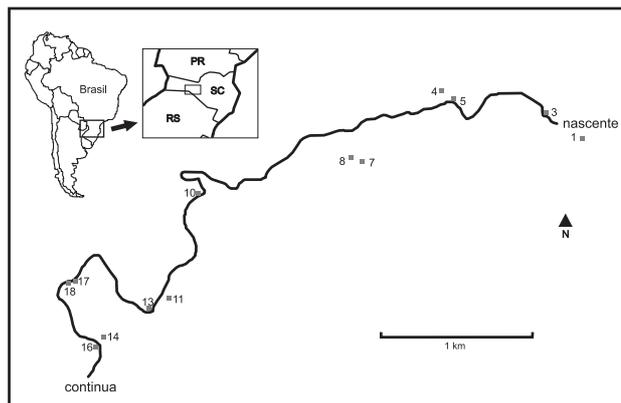


Figura 1. Mapa do rio Lajeado Suruvi, Santa Catarina, indicando a localização de pontos amostrados no monitoramento de águas subterrâneas (1, 4, 7, 8, 11 e 14) e de superfície (3, 5, 10, 13, 16, 17 e 18), no período de setembro a novembro de 2005.

classificação bacteriana de amostras escolhidas aleatoriamente [21] de acordo com suas características microscópicas (morfologia e coloração de Gram) e testes bioquímicos (catalase, esclulina, oxidase, crescimento em ágar MacConkey) [12].

A diversidade foi calculada pelo índice de Simpson modificado [7] conforme a fórmula: $D=1/[S^s P_i^2]$, onde P_i é a proporção de colônias com uma morfologia específica, contribuindo para a microbiota total. A equitabilidade foi obtida pela fórmula: $E=D/S$ [7], onde S é o número total de distintos tipos de colônias.

Os dados foram avaliados estatisticamente através dos testes de Mann-Whitney U, utilizando o programa *GraphPrism 4.03* [11].

RESULTADOS

Verificou-se grande variabilidade no número de bactérias mesófilas aeróbias totais nos diferentes pontos amostrados. Nas amostras de água subterrânea as contagens variaram de $4,05 \times 10^1$ a $1,3 \times 10^4$ UFC/mL, tendo como mediana $6,4 \times 10^2$ UFC/mL.

Já nas amostras de água superficial verificaram-se contagens significativamente maiores ($p < 0,0001$) de microrganismos mesófilos, as quais variaram de $1,3 \times 10^3$ a $1,2 \times 10^6$ UFC/mL, sendo a mediana igual a $1,6 \times 10^4$ (Figura 2).

Observaram-se 14 tipos morfológicos nas amostras de água subterrânea, com predomínio de colônias com elevação convexa, bordos inteiros, puntiforme, pigmentação ausente e opaca (65,70%) seguido por colônias com elevação convexa, bordos inteiros, forma circular, pigmentação ausente e transparente (22,61%).

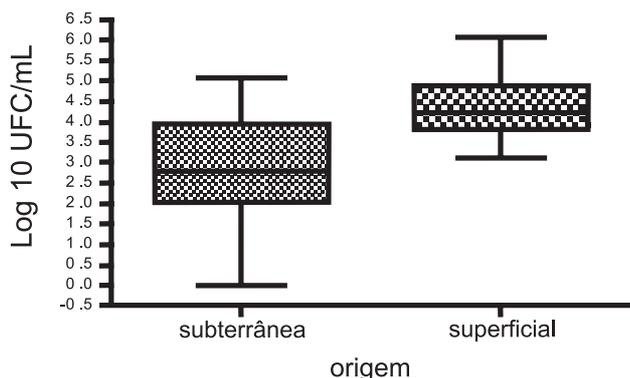


Figura 2. Box-plot da contagem de mesófilos aeróbios totais (Log_{10} UFC/mL) em fontes hídricas superficiais ou subterrâneas, amostradas na microbacia do rio Lajeado Suruvi/SC, no período de setembro a novembro de 2005.

Também nas amostras de água superficial observou-se a maioria de colônias com elevação convexa, bordos inteiros, puntiforme, pigmentação ausente e opaca (67,05%). Entretanto, observaram-se 26 tipos morfológicos.

A escolha aleatória de colônias nos treze pontos amostrados resultou na caracterização de 276 isolados, classificados em seis grupos. Observou-se predominância (54,79%) de microrganismos Gram-negativos, com crescimento em ágar MacConkey e positivos à prova da oxidase, nos pontos de águas subterrâneas monitorados.

Em águas superficiais isolaram-se a maioria de linhagens (39,9%) com características de bactérias entéricas, ou seja, Gram-negativas, com crescimento em ágar MacConkey e negativas à prova da oxidase (Tabela 1).

Determinou-se que a diversidade bacteriana nos pontos de água subterrânea variou de 1,7344 a 2,1693 e nos pontos de água superficiais, de 1,4031 a 2,7614. A equitabilidade variou de 0,2199 a 0,5423 e de 0,1154 a 0,2273 em águas subterrâneas e superficiais, respectivamente (Tabela 2). Verificaram-se

Tabela 1. Distribuição (%) de bactérias mesófilas aeróbias isoladas em fontes hídricas subterrâneas ou superficiais na Microbacia do rio Lajeado Suruvi/SC, no período de setembro a novembro de 2005, de acordo com as características morfotintoriais e bioquímicas.

Características morfotintoriais	Origem	
	subterrânea	superficial
G-Mc+O ^a	54,79	28,57
G-Mc+O-	13,70	39,90
G-Mc-O+	4,11	7,39
G-Mc-O-	4,11	15,27
G+C-	2,74	0,99
G+C+	20,55	7,88

^aG- = Gram-negativo, G+ = Gram-positivo, Mc- = sem crescimento em Mac Conckey, Mc+ = com crescimento em Mac Conckey, O- = oxidase negativa, O+ = oxidase positiva, C- = catalase negativa, C+ = catalase positiva.

índices de equitabilidade de águas subterrâneas significativamente maiores ($p=0,003$) que aqueles observados em águas superficiais.

DISCUSSÃO

Em geral, a água subterrânea é pobre em substâncias nutritivas devido à dificuldade de infiltração pelas diferentes camadas de solo e, por esta mesma razão, escassa em conteúdo bacteriano. Por esta razão, estas águas desempenham importante papel no abastecimento de água potável [19].

Embora as coleções de superfície apresentassem contagem de mesófilos superior às águas subterrâneas, os poços profundos apresentaram grande

Tabela 2. Diversidade e Equitabilidade (mínima, máxima e média) em amostras de água, segundo a origem.

Origem	Diversidade			Equitabilidade		
	mínimo	máximo	média	mínimo	máximo	média
Subterrânea	1,73	2,17	1,97 ^a	0,22	0,54	0,37 ^a
Superficial	1,40	2,76	2,20 ^a	0,11	0,23	0,18 ^b

^aletras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($P<0,05$).

variabilidade nas contagens, o que pode ser decorrente do fato de as coletas serem realizadas diretamente na torneira sem contemplar reservatórios ou a própria origem, podendo ter havido contaminação no trajeto ou local de armazenamento. Isto porque os produtores rurais, de um modo geral, não realizam higienização semestralmente destes reservatórios, como é recomendado [8].

Um problema na utilização de águas subterrâneas está relacionado às condições de construção das caixas de armazenagem, como presença de tampa, sem frestas, de forma a não permitir a entrada de insetos, revestimento da parede e piso [5], bem como respeitar orientações de construção para evitar contaminações de fontes de captação de água [15]. Exemplo da importância destes cuidados foi observado no município de Rio Preto, São Paulo, onde Aryd [1] observou que deficiências de construção técnica dos poços e sua inadequada manutenção contribuíram para contaminação de cerca de 30% de poços por coliformes fecais.

Já na década de 70, a presença de microrganismos em amostras de poços profundos foi atribuída, possivelmente, à contaminação após a captação nas caixas de armazenagem da água [23].

Os recursos hídricos, por outro lado, constituem-se em um importante aliado para a implementação de ações de saúde e ambiente, haja vista a importância da água para a vida humana, agricultura e a geração de energia. Há que se levar em conta o papel dos cursos de água na veiculação de inúmeras enfermidades. Além disso, intervenções no campo dos aproveitamentos hidráulicos, como barragens, hidrovias, aduções e projetos de irrigação acarretam riscos de incremento na incidência de algumas doenças [16].

Dos 22 gêneros bacterianos descritos com as características observadas nas amostras isoladas nos pontos de águas subterrâneas monitorados [12], três (*Bordetella*, *Moraxella* e *Pasteurella*) possuem histórico de patogenicidade em humanos e/ou animais e quatro (*Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, e *Alcaligenes*) têm a água e o solo como habitat natural e podem causar patologia [2,18]. Microrganismos com estas características, embora passíveis de patogenicidade, têm o ambiente como habitat natural [10], sendo que os microrganismos autóctones do solo são, na maioria, Gram-negativos [2] e têm sido reportados com frequência em coleções de superfície [19].

Também em água subterrânea predominam bactérias gram-negativas [19] sendo os gêneros *Achromobacter* e *Flavobacterium* os mais frequentes [19].

Existe relação entre as bactérias presentes na água e na terra, especialmente em águas correntes, por estarem constantemente expostas a contaminações procedentes do solo [19]. Neste sentido, a presença de microrganismos entéricos em águas superficiais era esperada, uma vez que estas estão predispostas à contaminação por lixiviação e esgotos [6,9,17]. Em Santa Catarina, aproximadamente 65% das propriedades possuem insuficiência da área para reciclagem dos dejetos [14], sendo que a maioria dos suinocultores utiliza esterqueiras para o tratamento de dejetos [13], os quais são depositados sobre o solo como adubo, após o período de 120 dias de armazenagem [4]. Estudo anterior [20] demonstrou que o manejo das esterqueiras na região não é eficiente à eliminação de microrganismos mesófilos, o que possibilita que este seja carregado aos cursos hídricos, promovendo a sua contaminação.

Em geral, em uma situação de equilíbrio ecológico, a vida na água se caracteriza por uma maior diversidade de formas vivas, isto é, uma grande variedade de espécies, representadas, cada qual, por um número restrito de indivíduos. Ao contrário, em água eutrofizada, mesmo que moderadamente, observa-se uma espécie de especialização ou seleção das espécies, em que o meio passa a possuir pouca diversidade mas representada por números extraordinários de indivíduos [17].

Verificou-se que os índices de equitabilidade de águas subterrâneas são significativamente maiores ($p=0,003$) que aqueles observados em águas superficiais, indicando predominância de um tipo morfológico no primeiro grupo. Porém, o mesmo não foi observado em relação à diversidade ($p>0,05$), indicando que não houve diferença no número de tipos morfológicos observados em águas superficiais e subterrâneas.

Em águas superficiais, partículas em suspensão são importantes na estruturação da microbiota local [19]. Também as características físico-químicas do habitat influenciam o crescimento, atividades, interações e sobrevivência dos microrganismos encontrados neste ambiente [2].

A água e a saúde das populações são duas coisas inseparáveis. A disponibilidade de água de qualidade é uma condição indispensável para a própria vida e mais que qualquer outro fator, a qualidade da água condiciona a qualidade de vida. Portanto, o entendimento de como a água e saúde estão relacionadas permitirá a tomada de decisões com mais efetividade e impacto [16].

CONCLUSÕES

As águas subterrâneas apresentaram predominância de um tipo morfológico, enquanto as águas superficiais apresentaram maior diversidade bacteriana e maior número de microrganismos com caracterização morfotintorial e bioquímica de bactérias enterais.

REFERÊNCIAS

- 1 **Aryd F.M. 2006.** Água subterrânea e Saúde Pública - (Manancial III). Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm>. Acessado em 03/2007.
- 2 **Atlas R. & Bartha R. 1998.** Microbial Ecology. 4th edn. Menlo Park: Benjamin/Cummings, 694p.
- 3 **Borsodi A.K., Farkas I. & Kurdi P. 1995.** Numerical analysis of planktonic and reed biofilm bacterial communities of lake Fertő. *Water Research*. 32: 1831-1840.
- 4 **Brasil - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. 2003.** Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Disponível em: <http://www.mapa.gov.br>. Acessado em 03/2007.
- 5 **Campos J.C.V. 2004.** Contaminação das águas subterrâneas na cidade de Mirante da Serra (RO). *Congresso Brasileiro de águas subterrâneas*. Disponível em http://www.cprm.gov.br/publique/media/contami_serra_ro.pdf. Acessado em 03/2007.
- 6 **Chará J.D.O. 1998.** El potencial de las excretas porcinas para uso múltiple y los sistemas de descontaminación. *Memorias del seminario internacional contaminación y reciclaje en la producción porcina: aspectos legales técnicos y económicos* (Santiago de Cali, Colombia). p.49-50.
- 7 **Chikh G., Pourquié J., Kaiser P. & Davila A.M. 1997.** Characterization of bacterial flora isolated from a pilot-scale lagoon processing swine manure. *Canadian Journal of Microbiology*. 43: 1079-1083.
- 8 **Copasa - Companhia de Saneamento de Minas Gerais. 2007.** Limpeza de Caixa D'Água. Disponível em <http://www.copasa.com.br>. Acessado em 03/2007.
- 9 **Ferreira Neto J.V., Santos R.J.Q., Wanderley P.B., Wanderley P.R.M. & Cavalcante A.T. 2002.** Vulnerabilidade natural das águas subterrâneas em área do Tabuleiro do Martins - Maceió, Alagoas, BR. *Revista Águas Subterrâneas*. 16: 57-75.
- 10 **Forbes B.A., Saham D.F. & Weissfeld A.S. 1998.** *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 10th edn. Saint Louis: Mosby, 1074p.
- 11 **Graphpad Software Inc. 2005.** GraphPad Prism, San Diego, USA. Disponível em <http://www.graphpad.com>. Acessado em 06/2006.
- 12 **Mac Faddin J.F. 2000.** *Biochemical test for identification of medical bacteria*. 3.ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 912p.
- 13 **Maroso M.T.D., Torres C.A., Borowsky L.M., Santos M.A.A., Cardoso M.R.I. & Schmidt V. 2003.** Caracterização de sistemas de tratamento de dejetos em unidades integradas de produção de suínos no município de Três Passos, RS. *In: III Mostra de Iniciação Científica da UPF* (Passo Fundo, Brasil). p.88.
- 14 **Miranda C.R. 2006.** Uma breve avaliação do TAC. In: Miranda C.R., Palhares J.C.P. & Bonêz G. (orgs). Termo de ajuste de conduta da suinocultura: Relatório de atividades. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br>. Acessado em 03/2007.
- 15 **Moreira W.S., Lima C.S., Oliveira Q.C., Scotti Q., Bitencourt A.F. & Silva L.S. 1973.** Condiciones Sanitarias del agua utilizada en granjas lecheras em um município em el Brasil. *Boletín de La Oficina Sanitarias Panamericana*. 75: 450-451.
- 16 **Opas – Organização Panamericana de Saúde. 2007.** Saúde e ambiente. Disponível em <http://www.opas.org.br>. Acessado em 03/2007.
- 17 **Porto M.F.A., Branco S.M. & Luca S.J. 1991.** Caracterização da qualidade da água. *In: Porto R.L.L. (Org.). Hidrologia Ambiental*. São Paulo: EDUSP/ABRH, p.27-66.
- 18 **Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. & Carter G.R. 1994.** *Clinical Veterinary Microbiology*. Londres: Mosby, 648p.
- 19 **Rheinheimer G. 1987.** *Microbiologia de las aguas*. 4.ed. Zaragoza: Acribia, 299p.
- 20 **Santos M.A.A., Bitencourt V.C., Schmidt V. & Maroso M.T.D. 2006.** Esterqueira: avaliação físico-química e microbiológica do dejetos suíno armazenado. *In: V Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental* (Porto Alegre, Brasil). Disponível em meio magnético.

- 21 Schmidt V., Santin K. & Cardoso M.R.I. 2003.** Caracterização da microbiota mesófila aeróbia isolada de um sistema de lagoas de estabilização par o tratamento de dejetos de suínos. *Acta Scientiae Veterinariae*. 31: 179-184.
- 22 Varnier C. & Hirata R. 2002.** Contaminação da água subterrânea por nitrato no Parque Ecológico do Tietê – São Paulo, Brasil. *Revista Águas Subterrâneas*. 16: 97-104.
- 23 Viana F.C., Moreira E.C. & Barbosa M. 1975.** Qualidade bacteriológica das águas de granjas avícolas do Estado de Minas Gerais. *Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG*. 27: 119-124.